

氏 名	寺西 優雅
学 位 の 種 類	博士 (医学)
学 位 記 番 号	第 6097 号
授 与 報 告 番 号	甲第 3417 号
学位授与年月日	平成 26 年 3 月 31 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当者
学 位 論 文 名	<b>Involvement of Hepatic Stellate Cell Cytoglobin in Acute Hepatocyte Damage through The Regulation of CYP2E1-mediated Xenobiotic Metabolism</b> <b>(肝星細胞のサイトグロビンが急性期の肝細胞障害において CYP2E1 を介した薬物代謝の制御に関与する)</b>
論文審査委員	主 査 河田 則文 教授                      副 査 首藤 太一 教授 副 査 鰐淵 英機 教授

## 論 文 内 容 の 要 旨

【目的】 酸素はチトクローム P450 2e1 (Cyp2e1)を介する薬物代謝に必要である。サイトグロビン (Cygb)は肝星細胞特異的に発現する酸素結合蛋白であるが、肝薬物代謝における Cygb の関与は不明である。本研究では Cyp2e1 が寄与するアセトアミノフェン (APAP) 誘発肝障害における Cygb の役割について検討した。

【方法】 野生型マウス (WT) と Cygb 欠損マウス (KO) に、Cyp2e1 が関与して毒性を発現する APAP 300 mg/kg ならびに四塩化炭素 (CCl4) 0.5 mg/kg、一方、Cyp2e1 の関与がない lipopolysaccharide 5  $\mu$  g/kg/D-galactosamine 700 mg/kg (LPS/D-GalN) を腹腔内投与してそれぞれ肝障害を誘導した。

【結果】 WT に比較して KO では APAP 投与後 6 時間の血清 ALT 値の上昇と中心静脈周囲の肝細胞壊死が軽減した。APAP から Cyp2e1 を介して産生される細胞障害性物質 N-acetyl-p-benzoquinone imine (NAPQI) は KO で有意に減少した。Cyp2e1 は APAP 投与後に mRNA と蛋白レベルで有意に低下したが WT と KO 間で投与前後共に差はなかった。肝臓構造が破壊された In vitro での Cyp2e1 活性値も両群で差はなかった。初代培養細胞を用いた実験では 5%酸素培養は 20%酸素培養よりも APAP 誘発肝細胞障害を軽減した。この条件下で肝星細胞と肝細胞を共培養すると WT 由来の肝星細胞は肝細胞障害を悪化させたが、KO 由来の肝星細胞は悪化させなかった。APAP 誘発肝障害と同様に CCl4 誘発肝障害は KO で抑制されたが、LPS/D-GalN 肝障害は KO で抑制されなかった。

【結論】 肝星細胞の Cygb が肝細胞の Cyp2e1 の薬物代謝能に影響する可能性が示された。Cygb が欠損すると薬物代謝過程において肝細胞が一時的かつ局所的に急速に低酸素に陥り NAPQI 産生が遅延する結果 APAP 誘発肝障害が軽減すると推定された。

## 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

酸素はチトクローム P450 2e1 (Cyp2e1) を介する薬物代謝に必要である。サイトグロビン (Cygb) は肝臓内では星細胞に特異的に発現する酸素結合蛋白であるが、その肝薬物代謝への関与は不明である。本研究では Cyp2e1 が寄与するアセトアミノフェン (APAP) 誘発肝障害における Cygb の役割について検討した。

野生型マウス (WT) と Cygb 欠損マウス (KO) に、Cyp2e1 が関与して毒性を発現する APAP 300 mg/kg あるいは四塩化炭素 (CCl4) 0.5 mg/kg を投与して誘導した急性肝障害、一方、Cyp2e1 が関与しない急性肝障害を lipopolysaccharide 5  $\mu$  g/kg と D-galactosamine 700 mg/kg (LPS/D-GalN) を投与して誘導した。

その結果、WT に比較して KO では APAP 投与後 6 時間の血清 ALT 値の上昇と中心静脈周囲の肝細胞壊死が著明に軽減した。APAP から Cyp2e1 を介して産生される細胞障害性物質 N-acetyl-p-benzoquinone imine (NAPQI) の血清中濃度は KO で有意に減少した。Cyp2e1 は APAP 投与後に mRNA と蛋白レベルでともに有意に低下したが、WT と KO 間で差はなかった。肝ミクロ

ソーム分画の **Cyp2e1** 活性も両群間で差はなかった。マウスから分離した初代培養肝細胞を用いた実験で、**5%酸素**下培養は **20%酸素**下培養よりも **APAP** 誘発肝細胞障害を軽減した。**5%酸素**下で星細胞と肝細胞を共培養すると、**WT** 由来の星細胞は肝細胞障害を悪化させたが、**KO** 由来の星細胞は悪化させなかった。**APAP** 誘発肝障害と同様に **CCl4** 誘発肝障害は **KO** で抑制されたが、**LPS/D-GalN** 肝障害は **KO** で抑制されなかった。

これらの結果から、**APAP** の薬物代謝過程において、星細胞の **Cygb** が欠損すると肝細胞が低酸素に陥り **NAPQI** 産生が遅延する結果、**APAP** 誘発肝障害が軽減すると推定された。

以上のように、著者は肝星細胞に存在する **Cygb** が肝細胞の薬物代謝動態を制御することを初めて明らかにしたことから、博士(医学)の学位を授与するに値するものと判定された。